

REGULACION FARMACOLOGICA DE LA PROTEINEMIA (*)

FEDERICO TORTOSA

(de Barcelona)

FISIOPATOLOGIA DE LAS PROTEINAS

Proteinograma normal

EL uso de técnicas distintas (gravimétrica, refractométrica, Kjeldahl) unido al escaso número de trabajos que se ocupan del proteinograma normal, hace que no exista unanimidad en cuanto a la cifra normal de proteínas totales, discrepancias que se hacen mayores cuando se trata de las distintas fracciones proteicas.

Los trabajos existentes se refieren a un corto número de individuos normales, lo cual representa también un inconveniente para obtener consecuencias. Al mismo tiempo algunas técnicas, como la gravimétrica y la refractométrica precisan la correcta deslipidización de las proteínas, para evitar el fac-

tor lipídico que algunas proteínas presentan. Esto, unido a lo engorroso de la práctica, constituye otro factor y explica las discrepancias que presentan los resultados obtenidos por una u otra técnica, incluyendo la del Kjeldahl o calorimétrica.

Tomado de Gras (1) damos un resumen de los resultados obtenidos por diversos autores, cuyos trabajos merecen mayor garantía y que da un promedio global de los valores refractométricos y del Kjeldahl.

Para hallar un valor objetivo más aceptable como promedio normal, Sols ha utilizado una mezcla de sueros normales que constituye una media aritmética, y se soslayan así los errores inherentes a distintas técnicas y autores.

El sexo parece que no constituye una causa de diferencia en cuanto a la proteinemia. La mayoría de

* Memoria presentada para optar al Premio «Anales de Medicina y Cirugía» de la Real Academia de Medicina de Barcelona. Concurso de 1966. Declarada «meritoria». Lema: «La ateromatosis es el mayor asesino del hombre civilizado».

autores se inclina en favor de esta tesis. Gras, basándose en los resultados obtenidos por algunos autores, afirma que es posible que el contenido de albúmina de los sueros masculinos sea superior al del de las mujeres.

Según Caspani (2), la albúmina desciende bruscamente en los dos primeros meses de la vida para aumentar paulatinamente después. La globulina alfa, que es baja al nacer, aumenta en los primeros meses de vida, mientras que la globulina gamma disminuye rápidamente, alcanzando los valores más bajos en el segundo semestre de la vida. El proteinograma adquiere las características del adulto de los dos a los trece años.

Bing, Naeser, Rasch y Rojel examinaron, en 1946, el valor de las proteínas en el suero de 87 individuos sanos, de ambos sexos, y encontraron diferencias pequeñas, pero significativas, en la albúmina y la globulina, entre hombres jóvenes y viejos.

Olbrich, O (3) concluye, en un trabajo realizado entre individuos cuya edad oscilaba entre 61 y 68 años, que los valores son inferiores a los considerados como normales en los adultos y que la proteinemia tiende a disminuir con la edad. Este autor halló un promedio de 57,01 grs. %, con unos límites entre 40,2 y 71,4 grs. %.

Rafski, Newman y Krieger concluyen en un trabajo (4) que en el 67 % de los individuos estudia-

dos, la globulina beta era superior a los límites más altos descritos para los adultos normales. Este trabajo, realizado sobre 21 individuos de ambos sexos, de edad comprendida entre los 70 y los 95 años, dió como resultado que en el 57 por ciento de los casos, la relación A-G era inferior al 1,5. En el 43 %, la albúmina era inferior al 55 % y, en un 76 %, las globulinas eran superiores al 33 %.

Manzoni, Ravizza y Scarzella (5) demostraron que a partir de los 40 años hay una disminución de la albúmina y un aumento progresivo de la globulina gamma, aumento que se hace intenso a partir de los 60 años.

Según Gras (6), los valores promedio para las distintas fracciones expresados en gramos /1.000, hallados en un estudio realizado en cuatro ancianos de edades oscilantes entre 80 y 95 años, son:

| PT. | Ab. | Globulinas | | |
|-------|-------|------------|------|-------|
| | | Alfa | Beta | Gamma |
| 64,18 | 30,09 | 7,23 | 5,97 | 20,88 |

El citado autor concluye que en los ancianos, sobre todo en edades superiores a los 80 años, se presenta generalmente discreto, si no se presenta algún proceso patológico, el signo típico de toda disproteinemia: descenso de la albúmina y aumento de las globulinas.

Variaciones de la proteinemia total en el curso de las 24 horas

Doring, Schaeffers y Weber (7) han realizado un estudio sobre 7 personas sanas, a las que han practicado determinaciones de la proteinemia cada 3 horas, durante el transcurso del día. La técnica empleada ha sido el método densimétrico. La edad de los individuos oscilaba entre los 25 y 45 años. Las determinaciones fueron hechas varias veces a las mismas personas, con intervalos de 20 días.

Dichos autores comprueban un claro descenso del valor de la proteinemia desde 68 grs. o/oo, a las 22 horas, hasta 58,5 grs. o/oo, a las 4 de la madrugada. A partir de esta hora vuelve a subir la proteinemia hasta alcanzar la cifra inicial de 68 grs., a las 10 de la mañana. La proteinemia tiene su valor máximo a las 22 horas.

El ritmo observado por las oscilaciones de la proteinemia indujo a estos autores a pensar que podía ser debido al ritmo fisiológico de sueño vigilia. Con este objeto, realizaron un estudio, deduciéndose de él, con toda seguridad, la existencia de una disminución de la proteinemia total durante las horas de sueño. Estos autores achacaron el fenómeno a la posibilidad de una regulación central a través del sistema neurovegetativo en relación con el tono simpático diurno y el parasimpático nocturno.

Se ha comprobado numerosas ve-

ces que la proteinemia presenta variaciones según se determine en individuos echados o levantados.

Lange es quien ha comprobado, en 1946 (8), más detenidamente estas variaciones. El resultado de sus estudios es el de afirmar la existencia de un promedio claramente más bajo para los individuos echados en posición horizontal desde un tiempo antes de la extracción de sangre.

Influencia de la posición sobre la proteinemia total

| N.º obs. | Sexo | Edad | Prot. tot. | Posición |
|----------|------|-------|------------|------------|
| 60 | M | 20-37 | 75,2 | levantados |
| 55 | F | 18-59 | 73,8 | levantados |
| 23 | M | 22-49 | 68,9 | en cama |
| 23 | F | 17-53 | 8,7 | en cama |

Hynes, Ishag y Morris estudian la influencia del ejercicio en un grupo de soldados y reclutas indios. Los someten a un ejercicio ligero, después del cual comprueban un aumento promedio de la proteinemia de 3 grs. ‰, restableciéndose los valores iniciales a los 30 minutos de reposo. Consideran que estas variaciones pueden ser provocadas por las del líquido circulante.

Estos mismos autores (9) comprueban que, en el ejercicio violento, la proteinemia aumenta un promedio de 7,5 grs. ‰, restableciéndose los valores iniciales al cabo de 60 minutos de reposo. La explicación que dan a este fenómeno

es el de las oscilaciones del volumen plasmático, cambios en el volumen de los hematíes y el paso de proteínas y hematíes de uno a otro lado del territorio vascular.

Ley fundamental de la fisiopatología de las proteínas plasmáticas

Es un hecho comprobado experimentalmente por numerosos autores, especialmente en las hipo-proteinemias, de que el organismo tiende a mantener constante el equilibrio normal entre las distintas fracciones de las proteínas del plasma, siempre que los mecanismos de compensación no fallen o no se agoten las capacidades proteicas de reserva. Sólo se produce una disprotenemia cuando fracasan estos mecanismos de compensación. Lo normal es que se mantenga en circulación una mayor proporción de albúmina.

Son muy interesantes las conclusiones a que llega Cutman (10) en sus experiencias. Dice dicho autor: «En condiciones patológicas, pueden presentarse cambios en la distribución de los componentes proteicos y, cuando las anormalidades ocurren, siguen un diagrama general. Los valores más altos de albúmina se presentan en los sujetos sanos (excluyendo la hemoconcentración que se presenta en la deshidratación) y el efecto de la enfermedad, particularmente los trastornos asociados con marcada

consunción o desnutrición, invariablemente, consiste en el descenso del valor de la albúmina en mayor o menor grado, siendo especialmente pronunciada la hipoalbuminemia cuando hay una acentuada pérdida de albúmina por la orina (síndrome nefrótico), o extravasación de proteínas (quemaduras) o cuando existe una perturbación en la formación de albúmina (cirrosis del hígado). Excepciones aparentes se presentan en los casos raros de plasmocitoma, en los que la proteína de Bence Jones u otras proteínas anormales pueden encontrarse en el filtrado de albúmina de Howe, dando valores falsamente elevados.

»El efecto de las diversas enfermedades en la globulinemia total, por otra parte, consiste en producir hiperglobulinemia, la cual puede ser muy acentuada en algunas infecciones, en las cirrosis hepáticas y en muchos casos de plasmocitoma. El fraccionamiento sistemático, según Howe, ha puesto de manifiesto que la hiperglobulinemia está asociada a menudo con hipoalbuminemia, de manera que el nivel de proteínas totales del suero puede encontrarse dentro de los límites normales, notablemente en las cirrosis, indicando lo inadecuado de las determinaciones únicas de proteinemia total y la necesidad de algún método para determinar las fracciones de albúmina y globulina total».

Poli (II) señala que las observa-

ciones sobre la proteinemia, llevadas a cabo en estos últimos años, lo han puesto claramente en evidencia, pero no ha sido aún suficientemente considerado: esto está representado por la estrecha interdependencia que se observa entre las variaciones de las dos fracciones en condiciones morbosas.

Löfer (W. Wuhrmann, F. y Wunderly, Ch. (12) han insistido sobre estos fenómenos: «Un hecho de gran importancia sobresale siempre de nuestras investigaciones: toda modificación del «espectro» de las proteínas séricas, incluso cuando no interesa al principio más que una sola fracción, repercute necesariamente, con una intensidad variable de verdad, sobre el conjunto de los constituyentes proteicos del plasma. Si se hace la abstracción del fibrinógeno, cuyas modificaciones patológicas son, por otra parte, extraordinariamente raras, se pueden llevar, en primer análisis, todas las transformaciones patológicas de las proteínas del suero a una fórmula simple e, incluso, fastidiosa: la tasa de la albúmina descende, mientras que se eleva la de las globulinas, esto por completo independientemente de la tasa de las proteínas totales que puede permanecer inmodificada, elevarse o descender. En otros términos, nos encontramos en presencia de un mecanismo inverso y unilateral de regulación del equilibrio Ab/G, en el sentido de que la albúmina

parece tener que adaptarse y asegurar una cierta compensación de las variaciones de las globulinas».

Más tarde dicen: «Toda disminución de la tasa de las proteínas del suero se debe, en principio, a una disminución de la fracción albumínica. Este hecho puede ser considerado igualmente como una ley general».

«En el curso de los millares de exámenes practicados en los casos más diversos, no hemos encontrado nunca un aumento patológico de la fracción albúmina, incluso, y esto merece ser subrayado, en los estados acompañados de una hiperproteinemia pronunciada, tales como ciertos casos de plasmocitoma».

«La tasa de las proteínas puede ser doblada, llegando a valores de 15 a 16 %, pero nunca se encuentra el más pequeño aumento, relativo o absoluto, de la tasa de albúmina. Las globulinas solas son responsables de la hiperproteinemia, afectando el aumento a una o varias de las subfracciones globulínicas».

A la luz de sus experiencias y de las consideraciones expuestas, Gras (13) formula la ley fundamental de la fisiopatología de las proteínas plasmáticas: «Siempre que se produce una perturbación no compensada del metabolismo de las proteínas plasmáticas, se establece un desequilibrio entre sus fracciones en el sentido de un déficit de la fracción albúmina».

Características de las fracciones proteicas

Para el establecimiento del grado de pureza de una determinada proteína pueden seguirse criterios diferentes: fisicoquímicos, químicos o biológicos. Entre los primeros, los más importantes son la solubilidad, electroforesis y peso molecular (ultracentrífuga) (14).

El carácter principal de las proteínas esféricas en estado nativo es su capacidad de unirse a las más diversas sustancias (15).

Atendiendo al criterio de solubilidad, estudiado en forma de fraccionamiento salino, y la electroforesis se llega a la separación de 5 fracciones proteicas en el suero y 6 en el plasma, las cuales presentan también una cierta homogeneidad a la ultracentrífuga (16).

La nomenclatura de estas distintas fracciones puede unificarse en la forma habitual en la electroforesis como albúmina, globulinas alfa₁, alfa₂, beta y gamma y fibrinógeno.

La composición en aminoácidos de las proteínas puede servir también para caracterizar a una determinada. También se puede recurrir al número de grupos amínicos libres, número de grupos fenólicos, curvas de electrotitulación, grupos prostéticos o contenido en otras sustancias químicas (lípidos, hidratos de carbono) y constancia de la relación entre el contenido de estas sustancias y nitrógeno (17).

Albúmina

Es la más homogénea, soluble, estable y de mayor velocidad electroforética de todas las fracciones de proteínas plasmáticas (18). Es también la que se aproxima más a la forma esférica de las proteínas sanguíneas (19).

Sus dimensiones son, aproximadamente, de 150 Å de longitud y 38 Å de amplitud, lo cual justifica su hidrosolubilidad. Está constituida por una proteína insoluble en solución de hiposulfito de sodio (44,1 grs. %) o de sulfato sódico (27,2 grs. %), tiene un punto isoelectrico de 4,90, una movilidad electroforética de 5,7-6,2 (pH 8,6, 12° C, veronal, veronal sódico) y un peso molecular de 69.000 (20).

La albúmina está relacionada fisiopatológicamente con los problemas concernientes al equilibrio hídrico, porque es la que presenta mayor presión oncótica, y con la función de transporte, ya que posee una gran capacidad para fijar sustancias de tipo fisiológico (bilirrubina, ácido úrico) o no (sulfamidas, rojo Congo, azul de Evans, penicilina, etc.). (21).

Diferentes hallazgos hablan en favor de que una gran parte de la albúmina se genera en el hígado (22).

La albúmina constituye el 55-62 por ciento de las proteínas del plasma y, debido a su gran apetencia por el agua, hace que sea un factor decisivo en la presión coloidos-

mótica total del plasma, teniendo una función importante en la regulación hídrica del organismo.

Estas fracciones son las más heterogéneas de las proteínas plasmáticas y están constituidas por proteínas y proteidos, o sea, proteínas unidas a glúcidos (glucoproteínas) y lípidos (lipoproteínas). Están integradas por proteínas que precipitan entre las concentraciones de hiposulfito sódico de 30,5 a 44,2 grs por ciento o superiores, o de sulfato sódico de 15,75 a 27,2 grs. % y superiores. Sus puntos isoeléctricos corresponden a un pH de 4,9 y 6,3 y la movilidad electroforética, a valores de 2,8 a 5,1 (23).

El peso molecular es de 200.000 para la globulina alfa₁ y de 300.000 para la alfa₂. Para las globulinas beta, oscila entre 90.000 a 1.300.000, correspondiente éste a la beta, que es una lipoproteína.

Tiselius, Blix y Svenson (24) comprobaron por electroforesis que los lípidos están unidos a las globulinas alfa y beta, principalmente. Otros autores han demostrado que las globulinas alfa y beta contienen 6 % de hexosas; la albúmina y la globulina gamma están exentas de lípidos.

Globulina gamma

La globulina gamma está constituida por proteínas químicamente homogéneas, insolubles en solución de Na₂S₂O₃ superior a 30,5 grs. % de SO₄ Na₂ a una concen-

tración superior a 15,75 grs. % y que presentan una cierta heterogeneidad electroforética. La movilidad electroforética de la globulina gamma puede ser tan baja como $-0,8 \cdot 10^{-5}$: (25).

En la electroforesis analítica habitual, la globulina gamma puede disgregarse fácilmente en gamma₁ y gamma₂. Esta heterogeneidad electroforética tiene un interés fisiopatológico y clínico, pues, en ciertos procesos patológicos se produce el aumento de una globulina gamma homogénea y, por el contrario, en otros casos el aumento es de una gamma heterogénea.

La mayor parte de la globulina gamma tiene un peso molecular de 156.000 y cada molécula presenta la forma de un elipsoide alargado de unos 350 Å de longitud y unos 40 Å de diámetro. La composición en aminoácidos de la globulina gamma se caracteriza por su riqueza en serina.

Las globulinas gamma se relacionan con los fenómenos inmunológicos. La mayoría de anticuerpos son globulinas gamma modificadas por el antígeno.

Bases teóricas de la electroforesis

La electroforesis tiene una gran importancia para el clínico, pues se aplica para enjuiciar los resultados de ciertas medidas terapéuticas (26). También es importante en el diagnóstico de una serie de procesos morbosos que poseen un

diagrama electroforético característico. La electroforesis de las proteínas plasmáticas no solo representa un vasto y rico complemento sino que, además, en la actualidad, es la prueba de control más importante para resolver casos dudosos.

Es también muy importante para el clínico la circunstancia de que la electroforesis de las proteínas plasmáticas nos informa, junto con la exacta determinación de su movilidad, sobre su cantidad absoluta y relativa, las cuales pueden variar ampliamente.

Gras (27) define a la electroforesis (primeramente llamada cataforesis) como la migración de una micela coloidal a través de un medio de dispersión, producida por una fuerza electromotriz.

Según Wiedemann (28) la electroforesis es el proceso de transporte de coloides y, por tanto, de partículas proteicas, o sea, iones, en un campo eléctrico.

El estudio de la migración de diversos coloides minerales producida por la acción de un campo eléctrico fue iniciado por las observaciones de Reuss, en 1807, estudiando el comportamiento de las partículas de arcilla suspendidas en el agua. Otros investigadores prosiguen los ensayos, llegando a separar los coloides en dos grandes grupos, coloides catiónicos y aniónicos, según el sentido de su desplazamiento por la acción de la corriente a uno u otro polo.

Partiendo de los estudios de Helmholtz, Lamb dedujo una ecuación para expresar la velocidad de desplazamiento de una partícula esférica cargada a través de un líquido y bajo la influencia de un campo eléctrico. La electroforesis presenta una analogía con la iontoforesis, o sea, el transporte de electrólitos en un campo eléctrico (29) en el cual la velocidad de las partículas es proporcional a su carga, así como a la intensidad del campo H , e inversamente proporcional a las viscosidad π del medio y al factor $6 \pi r$ (para las partículas esféricas) (30).

Esta es la fórmula de Lamb ligeramente modificada

$$r = \frac{H}{6 \pi r \pi}$$

en la que H es la intensidad del campo, o sea, la diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo partida por la longitud de la capa en centímetros.

La diferencia principal entre iontoforesis y electroforesis consiste en que en la electroforesis la fuerza electrostática determinada por la formación de una doble capa entre las partículas en movimiento y los iones electrolíticos presentes en el medio, disminuye el valor de la velocidad calculada según la fórmula anterior.

Si la partícula se encuentra en un medio que contenga sales, la interacción entre los iones de éstas

y las partículas modifican la velocidad de desplazamiento de las mismas, por lo que uno de los factores fundamentales en la electroforesis es trabajar a una fuerza iónica óptima y mantener la constante, lo cual se consigue mediante una adecuada solución tampón que mantiene, además, constante el pH. Esto es particularmente interesante para el caso de las proteínas, cuya carga eléctrica varía según el pH de la solución (30). A este respecto, Wiedemann (31) afirma que una característica de los coloides y, en particular, de las proteínas y de los proteidos es que el número de cargas dentro de los límites bastante amplios depende de la concentración de hidrogeniones del medio.

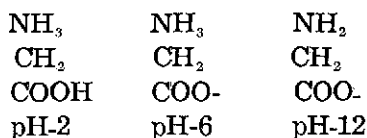
Gras cita las experiencias de Hardy, quien observó que había un pH en que la proteína no se desplaza ni al ánodo ni al cátodo, es decir, se comporta como una partícula eléctricamente neutra; a este pH le dio el nombre de punto isoelectrico. En un medio básico casi toda la proteína está cargada positivamente y se dirige al cátodo.

El punto isoelectrico es característico de cada proteína y posee gran importancia en los estudios electroforéticos de la misma. El pH se mantiene constante en todo el curso de la electroforesis, pero tiene gran importancia escoger el pH óptimo para obtener la máxima resolución de los componentes proteicos de una mezcla (suero o plasma

en nuestro caso) o con objeto de destacar especialmente alguno de ellos.

Las proteínas tienen la capacidad de disociarse en grupos ácidos y básicos. Las proteínas son moléculas resultantes de la unión de numerosos aminoácidos y contienen grupos ácidos y básicos libres. Una explicación del punto isoelectrico de una proteína puede ser la de que es aquel pH en que la proteína no está disociada en absoluto y carece, por tanto, de toda carga eléctrica (32). Al alejarnos del pH isoelectrico hacia la zona alcalina se disocian los grupos ácidos, actuando la proteína como un anión, y, si nos desplazamos hacia la zona ácida, son los grupos amínicos los que se disociarán y adquirirán cargas positivas, actuando la proteína como un catión.

Sin embargo, debemos aceptar otra explicación para este comportamiento. Adams en 1916 señaló que las sustancias con grupos ácidos y básicos (anfólitos) deben encontrarse en un estado especial. Un ejemplo lo constituye la glicola:



En los valores bajos de pH se halla cargado el grupo amínico, resultando que la carga es e. En medio neutro tiene lugar, además, la disociación del grupo carboxilo y resulta una carga de valor 0. Para

valores elevados de pH, la disociación del grupo amínico se halla totalmente inhibida, mientras que persiste completa la del grupo carboxilo, lo que determina una carga igual a e.

Bjerrum (33) afirma que todos los aminoácidos se encuentran en forma de dobles iones salinos ($\text{NH}_3\text{-R-CO}_2^-$), siendo más que verdaderos aminoácidos, sales internas de amonio. A este tipo de sustancias les llamó zwitteriones o iones hermafroditas.

La teoría del zwitterión define el punto isoelectrico de una proteína como el pH en que la proteína se comporta en grado máximo como un zwitterión, en el que existe un grupo mínimo de iones ácidos y básicos potencialmente no disociados y en el que sus cargas positivas se equilibran exactamente con las negativas (34).

Otros factores que intervienen en la velocidad de desplazamiento son la temperatura y la viscosidad del medio solvente (35). En la electroforesis de las proteínas del suero o plasma, la temperatura se mantiene constante a 4° en que la viscosidad del agua es máxima y las corrientes de convección mínimas (36).

Se puede obtener un valor característico para cada proteína, determinando su movilidad electroforética, definida como el cociente de dividir su velocidad de desplazamiento (desplazamiento en cms. (d) por unidad de tiempo en segundos)

por la caída de tensión experimental (E = ———) en cms.

tal ($E = \frac{d}{t}$).

volts.

Por tanto, la movilidad electroforética (u), se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$u = \frac{d}{t}; E = \frac{d}{tE} \quad (37)$$

La movilidad electroforética es característica para una determinada proteína siempre que trabajemos a un pH y fuerza iónica constantes. La expresión de su valor debe ir siempre acompañado de las condiciones experimentales en que se ha obtenido; manteniendo estas constantes, la movilidad electroforética es diferente, como veremos después, para las diversas fracciones proteicas que se encuentran en el plasma o suero.

Loeb (38) estudió detenidamente las reacciones de las proteínas isoelectricas ante la adición de un ácido (formación de una sal de proteína, p. ej., cloruro de proteína) y la adición de un álcali (formación de un proteinato, p. ej., proteinato de sodio). Este autor concluye que las proteínas reaccionan, no como sustancias coloides, sino según las leyes químicas, lo que debe tenerse en cuenta desde nuestro punto de vista, principalmente, en el estudio de las llamadas reacciones de labilidad coloidal. Las proteínas deben ser consideradas siempre como coloides electrolíticos, es decir, como

iones de gran tamaño, que les confiere su condición de coloides (39).

Cuando el pH del medio se desplaza del punto isoeléctrico hacia el lado ácido, el equilibrio de cargas de las proteínas se inclinará más a un predominio de cargas positivas y la proteína actuará como un catión. Por el contrario, cuando el desplazamiento del pH se hace al lado alcalino, predominan las cargas negativas y la proteína se manifestará como un anión.

La intensidad de estas cargas y el sentido de las mismas determinarán el sentido y la velocidad de desplazamiento de la proteína sometida a la acción del campo eléctrico. De aquí la importancia del punto isoeléctrico (velocidad nula) y también la del pH en que transcurre la electroforesis.

En el punto isoeléctrico, la solubilidad de una proteína se encuentra en su punto mínimo porque el equilibrio interno que existe entre cargas positivas y negativas le confieren el comportamiento de una partícula coloidal neutra y, por ello, muy inestable. Contribuye además a esta inestabilidad el que la proteína esté también menos solvatada, es decir, menos hidratada. O sea, que los factores de estabilización (carga e hidratación) se encuentran en grado mínimo. La menor hidratación en el punto isoeléctrico confiere también una viscosidad mínima y una mínima inhibición de la proteína en este punto (40).

Debido a que el pH del medio modifica el sentido de la carga proteica así como la intensidad de la misma y, por tanto, la velocidad de desplazamiento, los diversos componentes de una mezcla proteica, de acuerdo con su punto isoeléctrico, se desplazarán unas al ánodo y otras al cátodo. La mejor separación de las distintas fracciones del plasma o suero se obtiene cuando el pH del medio se encuentra en el lado alcalino del punto isoeléctrico de todas las proteínas componentes de la mezcla.

Longsworth (41) comprobó que es también importante la fuerza iónica y la naturaleza de los diversos iones que constituyen la solución tampón que se emplee para mantener constante el pH del medio. Usando el tampón de veronal a pH 8,6 aparecía un componente de movilidad menor que la albúmina, al que se llamó α_1 , compuesto por una mucoproteína, que se podía separar menos con un pH 4 ó 4,5.

Wiedemann (42) concluyó posteriormente que para la mejor diferenciación de las distintas fracciones del suero o del plasma mediante la electroforesis libre es conveniente usar el tampón de Michaelis de veronal-veronal sódico a un pH de 8,6 y fuerza iónica de 0,12. En otro lugar (43), afirma el mismo autor que las intensidades por debajo de 0,1, teóricamente, no son convenientes y, además, ocasionan anomalías, según Perlemann y

Haufman. En estas condiciones, se obtiene una separación óptima de la albúmina y de las globulinas alfa, beta y gamma en el suero y también del fibrinógeno en el plasma, aunque no se evita con este pH la llamada «beta globulin disturbance» (44).

Diversos autores estudiaron el comportamiento de la electroforesis del suero o del plasma en diversos pH y llegaron a la conclusión de que los tampones de veronal-sódico de pH 8,9 y 7,9 es en los que se obtiene la mejor resolución del mayor número de componentes.

Los mejores resultados se obtienen con los iones monovalentes y por ello son los utilizados en las soluciones-tampón empleados para la electroforesis del suero o plasma, como se deduce de las experiencias realizadas por Przyleckys y Wunderly.

Para poder llevar a cabo la electroforesis de las proteínas plasmáticas en condiciones de constancia de pH y fuerza iónica es necesario dializar previamente el suero o plasma frente a uno de los tampones apropiados cuando se practique la electroforesis libre, aunque no es necesaria esta operación cuando se practique la electroforesis en papel.

Mecanismos de regulación de la proteinemia

El hecho de que el desequilibrio entre la proporción de las distin-

tas fracciones proteicas, cuando se produce, se haga en el mismo sentido, induce a pensar que esta uniformidad debe obedecer a un mecanismo de regulación que mantenga de forma exacta la proporción entre los distintos elementos o fracciones proteicas, cuyo equilibrio se rompe, al alterarse alguno de los factores de dicha regulación (45).

Es un hecho reconocido que el valor de la proteinemia y la proporción entre las distintas fracciones son unas constantes que se mantienen celosamente por el organismo y que sólo el agotamiento de la capacidad de compensación es capaz de determinar una alteración en el equilibrio.

Hasta ahora ha sido atribuida la función reguladora a diversos mecanismos, cuyos factores son hormonales, vitamínicos y nerviosos.

Factores vitamínicos. — Boger, A. y Schroeder, H. (46) han estudiado la acción de la vitamina C, a la que administraron por vía endovenosa, comprobando un aumento de la fracción albúmina, después de un tratamiento durante 3 a 5 días.

Otros autores han atribuido una influencia considerable a la vitamina B₂ en la regulación de las proteínas.

Bock, J. (47) ha demostrado un aumento del fibrinógeno tras la inyección intramuscular de 200 a 1.000 gammas de lactoflavina.

Un aumento de la proteinemia total de 4,4 grs. ‰ de promedio fue

observado por Labo, G. (48) tras la inyección de vitamina B₂ a 17 individuos con proteinograma previo normal. Estudios posteriores con la vitamina B₂ demostraron un aumento de la proteinemia total a expensas de la albúmina, con variaciones menos significativas de las globulinas.

El problema de la regulación de las proteínas no está resuelto todavía, no es posible sacar conclusiones firmes acerca de la importancia de las vitaminas en los mecanismos de regulación de la proteinemia.

Factores hormonales. — Después de citar la existencia de comunicaciones sobre la acción de la insulina, de las hormonas ováricas y de la paratiroides, a las que resta valor definitivo, Gras (49) cita la mayor importancia de los estudios realizados en torno a la acción de la tiroides y del sistema hipofisopararrenal como reguladores de la proteinemia.

Opina dicho autor, sin embargo, que no pueden extraerse todavía conclusiones firmes sobre la acción de la tiroides en la regulación de la proteinemia, pues algunos de sus efectos se deben exclusivamente a la participación que la secreción tiroidea tiene sobre el metabolismo de las proteínas en general y no en particular sobre la regulación del proteinograma. Leatham, según Gras, demostró experimentalmente que el hipotiroidismo aumenta la proteinemia total con un incremento de las globulinas en un 20-30 %.

En el hombre aumentaría la globulina beta.

Dougherty, Chase y White (50) han estudiado la acción del ACTH sobre los órganos linfoides, la proteinemia y los anticuerpos. Estos autores han comprobado que la inyección de sustancias adrenales determina un aumento de las proteínas del suero, especialmente, de la fracción globulínica. El mecanismo por el que se produce este fenómeno es el siguiente: la disolución de linfocitos a que dan lugar aquellas sustancias, provoca la liberación de nitrógeno por el citoplasma. Este nitrógeno entra en el depósito metabólico y participa de los procesos fisiológicos en que interviene el mismo, entre los cuales, se encuentra el de la síntesis de proteínas del suero.

Gras (51) prosigue: «Las variaciones de la proteinemia total y de las distintas fracciones han sido estudiadas en clínica, señalándose un descenso de la globulina gamma y, menos regularmente, de la alfa. En otros casos, aumenta la albúmina. Al no presentarse estas variaciones simultáneamente a una mejoría clínica, es lógico pensar que se presentan indirectamente, a consecuencia de una mejoría de las alteraciones del tejido conjuntivo.»

La administración de cortisona a poliartríticos ha dado lugar a trabajos en que se denuncia la influencia de la misma sobre la fracciones proteicas.

Después de exponer los resulta-

dos de sus experiencias, Gras (52) concluye que la influencia del sistema hipófisis-suprarrenales en la regulación de la proteinemia y del equilibrio entre sus distintas fracciones no puede considerarse aún como definitivamente establecido.

Factores nerviosos. — Gras (53) cita los trabajos de Thalhammer, O. y Janicek, L., quienes comprobaron un aumento de la V. S. G. después de la estimulación central por el aire en el curso de la encefalografía. Este fenómeno demuestra que existe una regulación por parte del sistema nervioso central y tiene un incuestionable valor porque pone en claro la relación entre el sistema nervioso y la proteinemia, relación, por lo demás, de carácter directo.

Un trabajo que resulta interesantísimo a este efecto es el de Atsumi Marimoto (54), por cuya importancia lo transcribimos: «Método: En el experimento se utilizaron conejos normales en ayunas y e' llamado aparato de Kurotsu-Simizu. Para lograr que la punta del electrodo hiciese contacto con el núcleo hipotalámico se abrió un orificio de 1 mm., aproximadamente, sobre la superficie del cráneo, en el sitio determinado de antemano. Si se quiere estimular la zona simpática debemos hacer el orificio sobre la sutura coronaria y a 0,5 mm. lateralmente a la sutura sagital. El estímulo eléctrico se mantiene por medio de un carrete de inducción conmutado a un acu-

mulador de 2 voltios. El carrete en cuestión debe tener 7 cm. de largo. Después del estímulo se obtiene sangre arterial por punción cardíaca. Primero, se extrae 1 cm. cúbico de sangre cada 30 minutos, cuatro veces; después, se extrae 1 c. c. al cabo de 60 minutos. El suero separado se midió por el método refractoviscosimétrico de Rother. Para poder determinar el efecto del estímulo provocado, fueron hechas secciones seriadas y teñidas con carboltionina.

Estimulando la zona simpática un total de diez veces, durante diez segundos ininterrumpidos con intervalos de 30 segundos, se observó la aparición de una excitación extraordinaria, exoftalmos y midriasis.

Según los resultados obtenidos, el estímulo de las células de la zona B da lugar a hiperproteinemia a expensas de la albúmina. La hiperproteinemia disminuye gradualmente a expensas, principalmente, de la albúmina. El cociente proteico, por tanto, aumenta al ser estimulada esta zona.

Cuando se estimula la zona parasimpática se observa enoftalmos y miosis, pero no aparece la excitación.

Discusión. — Miwa informó que el movimiento muscular de los ratones da lugar a una notable hiperproteinemia, a expensas de la albúmina. Las globulinas disminuyen. Este fenómeno se cree debido a una aceleración del metabolismo protei-

cc. En el informe previo de Sugiyama se dice que, al inyectar pilocarpina a los conejos, la albúmina aumenta inmediatamente, mientras que la inyección de adrenalina provoca hipoproteinemia, con disminución de la albúmina y aumento de las globulinas. Las variaciones observadas con la pilocarpina fueron debidas a un aumento de la densidad de la sangre.

Saito y Nakase observaron que la irradiación de conejos con RX daba lugar, asimismo, a hipoproteinemia, con disminución de la albúmina y aumento de las globulinas. Este fenómeno, como se ve, fue provocado sin estimular directamente el cerebro.

Leutscher observó que en la nefrosis hay una disminución de la albúmina y aumento de las globulinas y que en las enfermedades hepáticas sucede exactamente lo mismo.

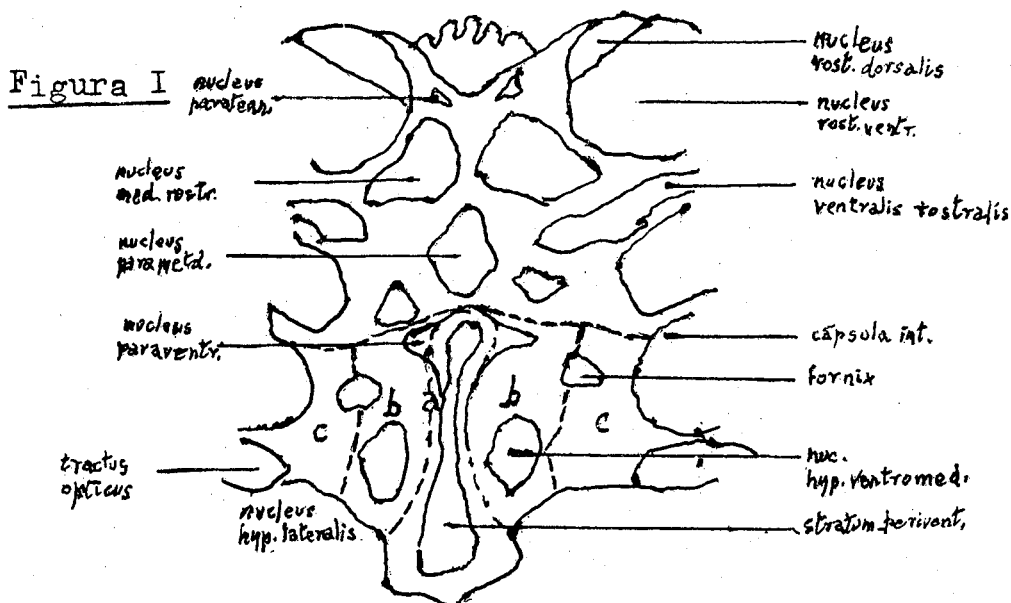
Resumiendo, en mi experimento, el estímulo de las células de la zona B da lugar a una hiperproteinemia. La albúmina aumenta, pero, con el tiempo, esta variación vuelve a la normalidad al tiempo que se produce un gradual aumento de las globulinas. Iwakura, Ban y otros demostraron que el estímulo de la zona B da lugar a una aceleración de la velocidad de sedimentación, un aumento de la presión sanguínea y a albuminuria. Estos datos resultan muy interesantes comparados con los obtenidos en mi experimento.

Hosoda probó que el ayuno prolongado de los conejos daba lugar a hipoproteinemia con aumento de las globulinas, mientras que la sangría de los conejos provocaba hiperproteinemia y aumento de albúmina. Esto es debido a que la albúmina tiene una capacidad de recuperación muy rápida. En mi experimento, al estimular la zona C, las proteínas totales y las globulinas disminuyen también gradualmente con el tiempo. Estos fenómenos son muy interesantes si se comparan con los experimentos previos de Iwakura, quien demostró que el estímulo de la zona C daba lugar a una aceleración de la velocidad de sedimentación.

Conclusiones. — 1) Sometiendo conejos a ayuno normal, la extracción de 1 c. c. de sangre cada 30 segundos, cuatro veces, seguida de otra extracción de 1 c. c. al cabo de una hora se observa una disminución de las proteínas totales a expensas de la albúmina, principalmente. Las globulinas aumentan gradualmente. 2) El estímulo de la zona B produce una marcada hiperproteinemia, con notable aumento de la albúmina. Las cifras vuelven a la normalidad gradualmente, con disminución de la albúmina y aumento gradual de las globulinas. 3) Cuando se estimula la zona C se produce una disminución de la proteinemia total, con disminución de las globulinas, gradualmente.

A juzgar por los variados estu-

dios experimentales e histológicos de los centros autónomos, el Prof. Kurotsu y sus cols. han dividido la pared del tercer ventrículo de la región hipotalámica en tres zonas que del centro a la periferia, son:



Los datos siguientes son los obtenidos por análisis electroforético de las proteínas séricas, después del estímulo eléctrico de los centros autónomos:

1) Al estimular la zona simpática puede observarse un aumento notable de la concentración de proteínas totales en el suero, simultáneamente a un aumento de la fracción albumínica. En algún caso, la globulina gamma está aumentada notablemente. Estos cambios vuelven a la normalidad al cabo de 60 minutos después del estímulo.

2) Cuando es estimulada la zo-

na parasimpática, hay una notable disminución de la fracción globulínica, a expensas, sobre todo, de la gamma. El aumento de la albúmina da lugar a un aumento del cociente proteico. Las cifras normales se recuperan a los 120 minutos después del estímulo.

Objetivos. — El debatido problema de la proteinemia y de su fisiopatología da motivo a numerosas controversias, todavía más enconadas cuando se trata de dirimir la importancia o posible significación patognomónica de las variaciones

de la protidemia total. En los últimos casos, con el importantísimo aporte que han significado los adelantos conseguidos en cuanto a la determinación de las distintas fracciones proteicas del suero por medio de la electroforesis, ha vuelto a ponerse el problema en un primer rango, no sólo por lo que respecta a las elucubraciones puras en el campo analítico, sino también, y muy primordialmente, por lo que atañe a la significación clínica.

Una de las cuestiones en que todavía los investigadores no han logrado un pleno acuerdo es la del comportamiento de la proteinemia total y de sus fracciones en la hipertensión, pues, si bien es cierto que una mayoría se inclina, a la luz de sus experiencias, hacia la consideración de una falta de significado (Poli, May y Oliver, Cionini, Valdoni, Cortesi, Botti, Wuhrmann y Wunderly, Gras, Rowe, Gettler, Openheim, Simeon, etc.), otros, menos numerosos (Codonius, Vidal, Govaërts, Fronzini y Mocna) han encontrado una hiperprotidemia global, manifestando un criterio abiertamente opuesto al de los anteriores y dando lugar a la posibilidad de una polémica, a la que nosotros hemos querido contribuir modestamente con el aporte de nuestros ensayos.

Uno de los fines que nos hemos propuesto es el de contribuir con nuestros ensayos al esclarecimiento de la cuestión debatida, a saber, características de la proteinemia

en los hipertensos y posible significado de las mismas.

Con este objeto, hemos pensado en la posibilidad de poder influir en la proteinemia total y en sus fracciones por la acción de un fármaco que, actuando terapéuticamente, pudiera lograr presumiblemente una acción sobre los mecanismos reguladores de la proteinemia.

Se conoce la existencia de un mecanismo de regulación de la proteinemia a través del sistema nervioso, gracias a una serie de experiencias, como las variaciones de la V.S.G. obtenidas por estímulo central por aire en el curso de la encefalografía, pero, sobre todo, por los recientes estudios de Doring, Webber y Schaeffer (7), quienes han demostrado la existencia de variaciones significativas durante el curso del día, comprobando una disminución de la proteinemia durante la noche y concluyendo existe la posibilidad de un mecanismo de regulación central a través del sistema nervioso vegetativo en el sentido de un aumento de la proteinemia durante el día (predominio del tono simpático) y de un descenso durante la noche, es decir, durante el predominio del tono parasimpático.

Los trabajos de experimentación de Atsumi Marimoto (54) efectuados sobre conejos, a los que estimulaba los centros hipotalámicos medios correspondientes a la zona simpática o zona B de Kurotsu y los núcleos laterales hipotalámicos, correspondientes a la zona C de Ku-

rotsu. El estímulo eléctrico de estos núcleos determina variaciones de la proteinemia en el sentido de una clara elevación total de la proteinemia bajo el estímulo de la zona simpática y de una disminución de la fracción globulínica, sobre todo, por estímulo de la zona parasimpática.

Sabido esto, hemos elegido una medicación que reuniera las cualidades previstas y que hemos hallado en la asociación reserpina-sulfato de I-4 dihidracinofthalacina. Efectivamente, un documentado estudio de H. J. Bein (55) nos informa del mecanismo de acción central de la reserpina, cuyos efectos son en todo semejantes a los que se obtienen por estímulo de los centros diencefálicos en el mono (sedante, depresor central, acción hipotensora, acompañada de bradicardia, inhibición respiratoria, estímulo del peristaltismo intestinal, miosis, relajación muscular y acción sobre el centro regulador de la temperatura). Otro trabajo de Bein, Gross, Tripod y Meier (56) pone de manifiesto otra vez la acción central típica de la reserpina. Y F. Gross (57) llega a conclusiones análogas.

El sulfato de I-4 dihidracinofthalacina, pese a estar catalogado como un fármaco de acción preponderantemente periférica, tiene otro mecanismo central reconocido en numerosos trabajos, cuyo testimonio pone fuera de duda esta característica (Tripod y Meier (58), Bein y cols. (59), Lühr, K, (60), O. Ca-

rere-Comes (61), A. Bertelli y V. Rovati (62).

Nuestro objetivo es el de comprobar el comportamiento de la proteinemia bajo la acción de la reserpina I-4 D. F. en los hipertensos.

Material empleado

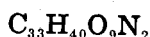
Hemos realizado un estudio de la proteinemia total en suero por el método del biuret y del fraccionamiento proteico por medio de la electroforesis en papel en 20 enfermos con diagnósticos etiológicos diversos, pero con el denominador común de estar afectados de hipertensión, de cuya etiología hemos prescindido intencionadamente, al objeto de poder realizar nuestros ensayos con el fin exclusivo de observar el comportamiento de la proteinemia de estos enfermos sometidos a la acción de la asociación medicamentosa antihipertensiva reserpina-sulfato de I-4 dihidracinofthalacina y establecer el grado de responsabilidad de la misma en las posibles variaciones que se pueden observar, independientemente del carácter etiológico de la enfermedad de cada uno.

Por esto, hemos realizado al mismo tiempo las observaciones pertinentes en siete individuos no afectados de enfermedad alguna del sistema circulatorio, digestivo y sanguíneo, con el fin de que nos sirvan de control en el momento de formular la discusión de los resultados y las conclusiones que se puedan desprender de los mismos.

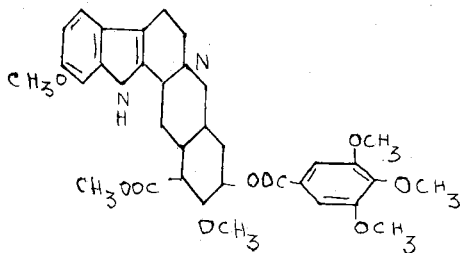
Asociación de reserpina y sulfato de I-4 dihidracinoftalacina

Historia. — Desde hace siglos en la India se emplean en Medicina los extractos de raíces y hojas de *Rauwolfia serpentina*. Recientemente, los médicos hindúes, usando extractos con fines sedantes, observaron las propiedades hipotensoras, sobre las cuales adquirieron pronto una gran experiencia. Posteriormente, ha sido aislado el alcaloide que parece poseer las cualidades observadas por aquellos en los extractos totales. Müller, Bein y Schlittler (63) lograron el aislamiento y síntesis del alcaloide que se conoce con el nombre de reserpina.

Los recientes estudios de Schlittler y cols. (L. Dorfmann, A. Furlenmeier, etc.) (64), han puesto en claro su fórmula empírica que es



y han demostrado que se trata de un éster del alcaloide que, por hidrólisis alcalina, se puede descomponer en ácido reserpico, ácido 3, 4, 5 trimetoxibenzoico y alcohol metílico. Fundándose en estos detalles, la fórmula desarrollada es:



Estudios posteriores de Bein (55), Gros, Tipod y Meier (56), ponen de manifiesto que la reserpina es el primer alcaloide en que se ha podido demostrar los peculiares efectos central e hipotensor. Dicen dichos autores que la reserpina muestra una variada actividad. Sus varios efectos componen un conjunto, la mayor parte de cuyos elementos se deben a una acción central, seguramente. Son típicos de la reserpina un efecto sedante particular, hipnótico, que se distingue de las demás sustancias conocidas por tener una actividad depresiva central, acción hipotensora, acompañada de bradicardia, inhibición respiratoria, estimulación del peristaltismo intestinal, miosis, relajación muscular y un efecto sobre el centro regulador de la temperatura.

Esta variedad de acciones fue puesta de manifiesto por Hess, mediante el estímulo eléctrico de ciertas estructuras diencefálicas del gato y corresponde al cuadro obtenido por Weiskrantz y Wilson en los monos, mediante el estímulo de la porción medio exterior del lóbulo temporal (incluyendo el complejo hipofisario y el córtex prepiriforme) o bien estimulando el córtex prepiriforme y la isla anterior (excluyendo la hipófisis).

Análogamente, en ensayos clínicos, combinados los diversos efectos individuales en un solo cuadro clínico, se ha comprobado en pa-

cientes con tumores del hipotálamo anterior.

Bein concluye: el hecho de que la reserpina dé lugar a un complejo de signos y síntomas tan definido indica con toda probabilidad que su acción se desarrolla sobre el conjunto del mecanismo central.

Es típico de la reserpina que solamente ciertas estructuras funcionales, tanto del sistema autónomo, como del somático, son sensibles a su acción. La localización de su punto de acción central depende, por otra parte, de la función que se estudie; así, pequeñas dosis pueden ejercer acciones débiles e intensas según el sistema interesado y, por otro lado, de la dosis administrada, esto es, que, cuando los ensayos son hechos sobre el mismo sistema funcional, la tendencia es de que pequeñas cantidades de reserpina actúan sobre puntos anteriores, mientras que dosis mayores tienen efectos sobre puntos posteriores. Algunos trabajos sugieren que el mecanismo de acción de la reserpina se caracteriza por un efecto inhibitor de los mecanismos, total o parcialmente.

Bajo la influencia de la reserpina se ha observado en las ratas que la metionina S35 se localiza en la región del hipocampo. «In vitro», la reserpina inhibe el consumo de oxígeno en determinadas regiones del córtex cerebral de la rata, sobre todo, cuando se administra a alta concentración. En los hipertensos no tiene una influencia sig-

nificativa sobre el consumo de glucosa y oxígeno por parte del cerebro.

Los diferentes efectos producidos por la acción de la reserpina pueden variar en intensidad de unas especies de animales a otras. Hay, sin embargo, dos características comunes a todos sus efectos; en primer lugar, que el inicio de su acción se produce después de un período de latencia que puede hacerse un poco más corto incrementando la dosis, pero que no puede ser eliminada totalmente y que existe, incluso, cuando la reserpina se administra por vía intraarterial, y, en segundo lugar, que dosis solitarias tienen efectos excepcionalmente largos de duración. Esto está en relación con las propiedades físicas y químicas de este alcaloide que, como regla general, es muy poco soluble. Pero también puede indicar, como se sugirió en los primeros estudios farmacológicos, que la reserpina no actúa «per se». Es posible que libere sustancias activas, la 5-hidroxitriptamina es, probablemente, una de ellas, o bien que él mismo se transforme en sustancia activa. Finalmente, es también posible que la reserpina misma o un metabolito de ella ejerzan sólo su acción farmacológica en presencia de una sustancia endógena liberada.

La reserpina «in situ» no tiene acción bloqueadora de los ganglios periféricos ni tampoco efectos simpaticolíticos, parasimpaticolíticos o

histamínicos. Por el contrario, antagoniza fuertemente al Cl Ba_2 y a la pitresina en los órganos de músculo liso aislados, al mismo tiempo que, determinados efectos de origen periférico, pueden ser manifestados también «in vivo».

Estudios experimentales de F. Gross con la reserpina han llevado al autor a conclusiones análogas (57). Este autor dice:

«El alcaloide reserpina, recientemente aislado en estado puro, puede ser considerado como el prototipo de una sustancia de punto de ataque preferentemente central.»

»Paralelamente a la acción hipotensora se observa un efecto calmante o depresor típico. Por otra parte, se constata miosis, prolapso de la membrana nictitante, estimulación del peristaltismo intestinal, salivación, hipersecreción gástrica e hipotermia. La reserpina determina un predominio de los síntomas vagales o trofotropos debido, probablemente, a la inhibición de los centros simpáticos del tronco cerebral.

»La reserpina atenúa el reflejo del seno carotídeo y disminuye el aumento de la presión por estímulo eléctrico del núcleo proximal del vago o del isquiático.

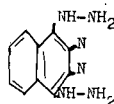
»La reserpina no actúa sólo sobre los centros simpáticos que regulan la circulación, sino también sobre otros substratos centrales.»

A. Martorell, por su parte, en un estudio clínico (65) subraya el mecanismo de acción de la reserpina

sobre los centros diencefálicos reguladores.

Sulfato de I-4-dihidracinoftalacina. — Las hidracinoftalacinas tienen el peculiar efecto de aumentar el flujo sanguíneo renal, rebajando gradualmente la tensión arterial.

Estudiados por Druey, J. y Ringier, B. H. (66) (1951), ha quedado establecida su fórmula desarrollada:



J. Tripod y R. Meier (58) dicen a propósito de los derivados de la hidracina: son sustancias químicamente muy reactivas que hasta hace poco no parecían poseer más que un interés toxicológico. Desde hace poco, dos grupos de sus representantes han despertado un interés farmacodinámico considerable por sus aplicaciones terapéuticas. Después de referirse a la hidrazida del ácido isonicotínico y sus derivados, como tuberculostáticos, se refieren a los derivados de la hidracinoftalacina, cuyo grupo muestra efectos farmacodinámicos bastante diferentes específicamente.

Bein y cols. (59) afirman, a través de los ensayos efectuados, que las hidracinoftalacinas elevan la potencia cardíaca, rebajan la resistencia periférica y modifican el suministro de sangre a ciertos órganos. Siguen diciendo que el análisis farmacodinámico tiene que considerar dos problemas: el tipo gene-

ral de acción farmacológica y el análisis del punto de ataque en el sistema circulatorio. Estos autores señalan una serie de acciones antagónicas sobre sustancias de efecto farmacológico típico, como la adrenalina, noradrenalina, pitresina, cloruro de bario, en determinadas acciones sobre los órganos circulatorios.

J. Tripod y R. Meier (58) han estudiado las reacciones de una serie de dihidracinofthalacinas frente a la histaminasa y citan las observaciones de otros autores sobre el antagonismo entre la hidracida del ácido isonicotínico y el ácido paraaminosalicílico, determinados glúcidos y sus metabolitos, o el pirodoxal, etc.

De tales observaciones puede inferirse en qué direcciones pueden ser encontrados los reactivos farmacodinámicos o bioquímicos de las hidracidas, así como el tipo de estas reacciones y, en el caso de la dihidracinofthalacina, el carácter particular y la prolongada duración del efecto hipotensivo así como el espectro de sus antagonismos vasculares, quienes indican modos de acción y puntos de ataque muy particulares que no pueden ser asimilados fácilmente a las reacciones vasculares clásicas sometidas a la influencia del sistema nervioso autónomo.

El mecanismo de acción de las ftalacinas es complejo y de un tipo especial. Estos preparados tienen una acción que se opone a los

efectos hipertensores de la adrenalina y la noradrenalina, pero, además, existe otro mecanismo más importante de origen central, cuya consecuencia es una inhibición de los impulsos vasoconstrictores de origen diencefálico. Además, la dihidracinofthalacina posee actividad contra las sustancias hipertensoras; posee cierta acción antagónica de la angiotensina (hipertensina), la serotonina y la ferentesina (67).

Es evidente, pues, que las dihidracinofthalacinas poseen una acción de tipo central, a pesar de que el carácter periférico de su punto de ataque resulte más llamativo clínicamente considerado. Abundan las observaciones a este respecto, empezando por la de Reubi, confirmada más tarde por numerosos autores, entre los que es frecuente hallar menciones al aumento de la diuresis comprobado (68). Entre nosotros, A. Martorell, (65) también señala la acción principalmente periférica de la dihidracinofthalacina, actuando sobre las propias paredes vasculares periféricas, sobre todo, aumentando la circulación renal.

Una síntesis de este doble mecanismo de acción la da Lühr, K. (60), quien cita las observaciones clínicas realizadas por numerosos autores (Frank y Thiele, Harris y Turner, etc.) en individuos normales, hipertensos y en animales de experimentación, las cuales permiten admitir la existencia de un

doble punto de ataque central y periférico (depresor del tono vasoconstrictor) a la vez, confirmando, por tanto, el mecanismo central depresivo de la droga puesto de manifiesto por numerosos autores (Bein, Gross, Tripod y Meier, Heintz y Löse, etc.).

El prof. O. Carere-Comes (61), en un estudio clínico y farmacológico de la ftalacina, hace la descripción de la misma de la siguiente manera: «el preparado 7441 o 1-4 dihidracinofthalacina cristaliza en cristales pequeños e incoloros con punto de fusión a 192-194° (descomposición), a la acción del aire se colorea lentamente de amarillo de cobre, es poco soluble como base libre (0,1 %) o como sulfato (0,3 %) y soluble como clorhidrato (3 %)».

El mismo autor estudia el mecanismo de acción de las hidracinofthalacinas y dice: «Esta posibilidad interpretativa del mecanismo de acción de la hidracina concuerda con las varias teorías que consideran el punto de ataque de las ftalacinas como fundamentalmente periférico, dando lugar a una disminución del tono y a un aumento del calibre de las arteriolas precapilares y particularmente de las arteriolas del glomérulo renal».

«Esto no excluye el que los hipotensores hidracínicos pueden actuar por un mecanismo neurógeno, admitiendo que puedan ejercer sobre los ganglios reguladores del tono basal la fundamental ac-

ción antioxidativa, y, por tanto, inhibidora».

Prosiguiendo su análisis, este mismo autor se refiere a los efectos sobre la diuresis, sobre la azotemia y sobre la función renal y dice que la existencia de trastornos del funcionalismo renal no contradice el uso del medicamento y se puede obtener casi siempre un descenso de la azotemia y un aumento de la diuresis, achacables evidentemente al aumento del flujo sanguíneo en el territorio renal, lo que representa la característica fundamental de los hipotensores ftalacínicos frente a todos los restantes hipotensores.

Según la casuística del prof. Carere-Comes, resulta que el tratamiento con el sulfato de 1-4 D. F. reporta un descenso de la azotemia (15,3 %) con el correspondiente aumento de la diuresis (+18,6 por ciento).

A. Bertelli y V. Rovati (62) estudian la influencia de la 1-4 D. F. sobre el reflejo del seno y observaron que el aumento de tensión que se obtiene por la ligadura de las carótidas por debajo del seno carotídeo está fuertemente inhibida en los animales sometidos a la acción del derivado ftalacínico.

Analizando este efecto, dicen que puede ser interpretado por una acción bloqueadora ganglionar o a través de la acción adrenalítica puesta de manifiesto por ellos mismos. Sin embargo, el bloqueo ganglionar no existe, según demues-

tran más tarde, y el efecto adrenalítico no es lo suficiente intenso para explicar la fuerte inhibición del reflejo del seno.

Bertelli y Rovati han infiltrado el seno carotídeo según la técnica de Heymans directamente con el ftalacínico en pequeña concentración, no habiendo obtenido una intensa caída de la tensión, como si el fármaco tuviese una capacidad selectiva de estímulo de aquella inervación que parte de las zonas vasosensibles del seno carotídeo y que da lugar inmediatamente a una caída tensional, al ser estimulada, y a una elevación, cuando es abolida.

La constatación de la marcada acción hipotensora que consiguen los citados autores con la infiltración de la zona del seno carotídeo con la 1-4 D.F. les induce a señalar el interés de dicha acción. La hipotensión obtenida es poco persistente si se hace una infiltración de la misma zona con adrenalina. Si se admite que la D. F. puede determinar una caída tensional por estímulo selectivo de la inervación del seno carotídeo, lo cual hace comprender cómo puede faltar el reflejo hipertensivo de la ligadura de las carótidas en el animal tratado con nuestro fármaco por vía general, porque parten del seno estímulos hipotensores independientes de las variaciones tensionales.

Los mismos autores estudian la acción de la D. F. sobre el vago y señalan que la respuesta al estí-

mulo del núcleo periférico del vago disminuye de intensidad cuando se ha inyectado la D. F.

La disminución de la sensibilidad al estímulo vagal se muestra cuando los valores tensionales se encuentran todavía a niveles relativamente elevados. Se puede excluir el hecho de que puede deberse a un estímulo parasimpático. Pero el hallazgo que constituyó la mayor sorpresa fue la ulterior caída constante de la presión que se comprueba en los animales tratados con D.F., lo mismo que si se seccionan los vagos.

Según los mismos autores, el fenómeno no se repite o se presenta con una intensidad mucho menor, si, en lugar de seccionar los vagos, se trata al animal con atropina. Por lo demás, era del todo previsible que el aumento de la hipotensión que se obtiene después de la sección de los vagos no puede ser atribuido a la supresión de la actividad periférica de éstos (como se observa con la atropina) por cuanto en este caso debería haber un aumento y no una posterior disminución de los valores tensionales.

Bertelli y Rovati concluyen que dicho fenómeno no puede atribuirse más que a una actividad del vago central. Las recientes investigaciones permiten afirmar que un estímulo del vago central determina el ingreso en la circulación de sustancias hipertensivas que no son de naturaleza adrenalítica, sino semejante a la serotonina. Tales sus-

tancias hipertensoras quedarán enmascaradas por los hipotensores ftalacínicos.

Bertelli y Rovati han realizado las siguientes experiencias: En animales con el vago seccionado han estimulado el núcleo central de uno de los vagos, obteniendo una respuesta hipertensora bastante duradera. En los animales tratados previamente con la D. F. esta respuesta hipertensiva disminuía claramente. Se comprueba que el estímulo del vago central, después de someter al animal a la acción de la D. F., produce un escaso aumento presor y, por esto, se sigue una ulterior caída tensional.

La interpretación que los citados autores dan al fenómeno descrito, basándose en la posterior caída tensional que se observa en los animales tratados con la D. F. seguidamente a la sección de los vagos, es la de que el estímulo del vago central pone en circulación sustancias hipertensoras, por lo que, el bloqueo del tono vagal en su centro da lugar al ingreso en la circulación de sustancias hipotensoras, cuyo efecto se halla exaltado por la acción del compuesto ftalacínico.

Que la acción de los hipotensores ftalacínicos pueda ser de origen central se infiere de experiencias muy simples que han llevado a cabo Bertelli y Rovati, inyectando el fármaco por vía endocarotídea. Advierten los autores que, en estos casos, bastan cantidades pequeñas de sustancia para deter-

minar una caída tensional notable y más rápida que la que se obtiene usando la vía venosa.

En un trabajo crítico sobre el mecanismo de acción de las ftalacinas, H. Schmit y J. Gicquel (69) se refieren a la tesis, afirmando un mecanismo de acción central para estas sustancias sostenida por H. J. Bein, F. Gross, J. Tripod y R. Meier citados ya por nosotros (Schweiz, Med. Woch., 83, 1953), por B. N. Craver, W. Barret, A. Camerón y F. Yonkmann, y R. Meier, H. J. Bein, F. Gross, J. Tripod y H. Tuchmann-Duplessis y R. K. S. Lim. R. L. Meffit y H. C. Glass.

Métodos

El procedimiento seguido ha sido el siguiente: estando el enfermo encamado y en ayunas desde doce horas antes, se ha extraído por punción en la vena del pliegue del codo, 10 c. c. de sangre. La sangre extraída con una jeringa seca se depositaba en tubos de centrífuga, secos y limpios, en número de dos, entre los que se repartía la sangre extraída.

La sangre de uno de los tubos se destinaba a la obtención de suero para determinar el contenido en proteínas por el método del biuret, cuyas características y procedimientos, por conocidos, excuso el exponerlos. La sangre del otro tubo se destinaba a la prueba de la electroforesis en papel.

La sangre del primer tubo se so-

metía a centrifugación durante 15 minutos, después de coagulada a temperatura ambiente, verificando la determinación de la proteinemia total.

La sangre del segundo tubo se sometía también a centrifugación, previa coagulación a temperatura ambiente, separación de los coágulos de las paredes mediante una varilla de vidrio fina y sometimiento de la sangre durante media hora a 37° en una estufa, con el fin de lograr la retracción del coágulo. La centrifugación se realizaba a 2.000 revoluciones por minuto durante media hora y, seguidamente, se procedía a la primera fase de la electroforesis.

La electroforesis en papel consta de tres fases: electroforesis propiamente dicha, revelado del papel y determinación de cada una de las fracciones separadas.

La primera fase consiste en la colocación del suero en el papel de filtro, del que hemos usado la marca Schleicher Schull 597. La cantidad de suero empleada ha sido de 0,025 c. c. aproximadamente (no es necesario medirla con precisión). Inmediatamente después de colocar el suero, se procedía a humectar el papel con una solución tampón que, en nuestro caso, ha sido la de veronal-acetato, de pH 8,6 y fuerza iónica de 0,1.

Preparado ya el papel, lo colocábamos en la cámara húmeda de Grassman y Hännig e introducíamos en la cubeta los electrodos, haciendo circular una corriente de

180 voltios y 6 miliamperímetros, durante 9 horas.

La segunda fase o revelado del papel la realizábamos tiñiendo las tiras con un colorante selectivo de las proteínas. Hemos elegido el amidoschwartz o negro de anilina 10B Bayer. Efectuábamos seguidamente la decoloración con metanol-acético, con lo cual lográbamos visualizar las distintas fracciones proteicas, perfectamente individualizadas del resto del papel.

Hemos empleado el colorante en solución saturada de alcohol metílico conteniendo un 10 % de ácido acético, la decoloración la obtenemos con una mezcla de metanol (90) y ácido acético (10). Hemos decolorado el papel hasta lograr que éste presente una coloración azul pálido.

Seguidamente, procedíamos a desarrollar la tercera fase, o sea, la lectura de las distintas fracciones. Hemos empleado un fotómetro Elphor de célula fotoeléctrica.

Previo la lectura, procedíamos a hacer transparentes las tiras de papel mediante la inmersión de las mismas en parafina. La lectura se ha efectuado de milímetro en milímetro, obteniendo con ello una curva que se desintegra en las diversas campanas de Gauss, las cuales se planimetran y dan, mediante un sencillo cálculo, la relación porcentual de las diversas fracciones.

Extraída la sangre, se prescribía el tratamiento del hipertenso con una dosis «standard» de 3 comprimidos al día de la asociación

reserpina-sulfato de 1-4 dihidraci-noftalacina, sustancias que están contenidas en la cantidad de 0,1 mg. y 10 mg., respectivamente, en cada comprimido. Se ha aconsejado tomar los comprimidos, uno después de cada comida. La dosis de 3 comprimidos al día fue adoptada a la luz de diversas experiencias clínicas (71), en las que se obtuvieron bajas tensionales medias importantes y fueron mantenidas con la citada dosis.

El tratamiento ha sido mantenido durante un período promedio de 12 días, durante los cuales se ha comprobado, con intermitencias de 2-3 días, la marcha de los valores tensionales y, diariamente, la diuresis del enfermo, al que se ha mantenido encamado durante los ensayos.

Después de este período, se ha procedido a la extracción de sangre de los enfermos en estudio, verificando la repetición de las pruebas iniciales con objeto de obtener los resultados finales, meta de nuestro trabajo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Proteinemia total en los hipertensos

En los 20 individuos estudiados, las cifras totales de proteínas en suero permiten afirmar que las variaciones por fuera de la normalidad son escasas. El valor promedio

de la proteinemia, según nuestros estudios, es de 66,65 grs. %, cifra que concuerda plenamente con las dadas como normales por diversos autores. Linder, Lundsgaard y Van Slyke dan, en efecto, como normal, la cifra de 67,3 grs. ‰; Jones, la de 67,3; Bruckmann, D'Esopo y Peters, la de 69,3; Dyson, apoyándose en una numerosa casuística, la de 65,6 y 67,8 grs. ‰. Estudios más recientes de Barbagallo y Reiner, Fenickel y Stern, apuntan como normales la cifra de 68 y 73 grs. ‰ respectivamente.

De los 20 casos estudiados, solamente tres se apartaban de la normalidad, dando cifras de proteínas totales de 93 grs., 90, 30 grs. y 80 grs. ‰. Estos casos, apartándose de la normalidad, son tan escasos que no pueden ser valorados. Son muy numerosos los factores que pueden haber determinado erróneamente estas cifras que rozan casi las típicas de los plasmo-citomas, descartados clínicamente.

En cuatro casos, la desviación era en sentido contrario, presentando cifras de proteínas francamente descendidas, 45,5, 43,4, 50,4 y 49,7 grs. ‰. Estas cifras corresponden a enfermos afectados de procesos renales, dos nefroesclerosis y una nefritis crónica y a una mujer hiponutrida, afecta además de un proceso cardíaco evolutivo. No es de extrañar, pues, hallar estas cifras descendidas.

Arthur C. Allen (72) dice a propósito de las proteínas en las glo-

merulonefritis crónicas: «La proteinuria es un signo casi constante y bien conocido de la glomerulonefritis crónica, al igual que de la infección aguda. Cuando la albuminuria es abundante y persistente aparecen los elementos clínicos del síndrome nefrótico: hipoproteinemia, inversión del cociente Ab/G, hipercolesterinemia y edemas. En muchos casos, disminuye la cantidad de albúmina en la orina y con esto se reducen los edemas y la hipoproteinemia».

En los casos de nefritis citados se daban, efectivamente, todos los síntomas de hipoproteinemia, con edemas considerables y albuminuria intensa que, en un caso, llegó a ser de 15,5 grs. ‰. También en estos casos se daba la inversión del cociente Ab/G.

M. Díaz Rubio y Francisco Segovia (73), en un estudio electroforético de las proteínas del plasma en las nefropatías, dicen: «En lo que se refiere a la proteinemia, era conducta general la existencia de un descenso, que alcanzó sus cifras más bajas en la nefritis subcrónica, coincidiendo siempre con edema. Tal hipoproteinemia se hizo siempre a expensas de la albúmina, ya que la cifra total de globulinas, salvo en el caso de hipertensión maligna, en que estaba descendida, se mantenía dentro de los límites normales e incluso los sobrepasaba, llegando a veces a cifras que permitían hablar de hiperglobulinemia».

En todos estos casos, la albuminuria descendió como consecuencia del tratamiento, desapareciendo los edemas simultáneamente. Es característico este hecho terapéutico de la asociación reserpina-hidracinofthalacina, según atestiguan numerosos trabajos clínicos sobre la misma, los cuales, asimismo, coinciden en afirmar que se produce un aumento de la diuresis (61) (68).

A propósito de las nefropatías, Poli afirma, «El síndrome nefrótico no debe ser considerado como una nefropatía primitiva, sino como una protidoplasmapatía con nefropatía».

Se puede decir que no existe un cuadro protidéxico característico de las diversas nefropatías primitivas. En la glomerulonefritis aguda puede haber alteraciones imputables al proceso infectivo del cual depende la nefropatía».

«En la glomerulonefritis crónica y en las esclerosis renales coexiste, a menudo, el sufrimiento de otras vísceras y complicaciones que pueden por sí mismas determinar alteraciones protidéxicas».

Más tarde afirma: «Un particular tipo de alteración protidéxica de naturaleza carencial se puede observar en estos enfermos sometidos a dietas demasiado rígidas y pobres en proteínas. En tales casos, la protidemia puede disminuir hasta grados notables y facilitar la presentación de edemas».

También Wuhrmann, F. y Wun-

derly, Ch. (75) dicen a propósito de la proteinemia en las nefroesclerosis: «Las modificaciones del cuadro proteico no presentan un comportamiento uniforme».

«Puede aceptarse como regla general el hecho de que en las nefroesclerosis benignas (según el concepto de Volhard (Nierenkrankungen und Hochdruck, Leipzig, 1942) corresponde a la hipertensión roja) las alteraciones son poco salientes.»

En los tres casos encontrados por nosotros, efectivamente, no se produce una alteración que permita atribuir un significado concreto, abundando en la tesis de Wuhrmann.

A tenor de los resultados obtenidos antes de proceder al tratamiento con la asociación medicamentosa, debemos concluir que no se observa ninguna modificación significativa de la protidemia.

Esta afirmación viene corroborada por la opinión de numerosos autores, como Poli (74), quien dice a propósito de la proteinemia en la hipertensión: «En la hipertensión arterial ha habido más de un autor que ha creído poder atribuir gran importancia al aumento del fibrinógeno, la mayor concentración plasmática de esta fracción de característica molecular simétrica, significaría un aumento de la viscosidad, y por tanto, de la resistencia al fluir la sangre en el árbol circulatorio. Haciendo esta concepción, sin embargo ha debido reconocerse que en los casos de hiper-

tensión no complicada (sobre todo, no complicada por alteraciones renales) no se observa ninguna modificación significativa de la protidemia».

«Bastará al objeto poner de manifiesto las discordancias de las respuestas obtenidas por los diversos autores, alguno (Codonius, Vidal, etc.), habiendo encontrado una hiperprotidemia global, otros negándola completamente (May y Oliver, Cionini, Valdoni, Cortessi, Botti)».

«Desde el punto de vista electroforético, merece, sobre todo, señalar el hecho de que en las hipertensiones malignas se observa a menudo un aumento de las beta-globulinas. Este aumento no puede ser atribuido a la alteración hemodinámica por sí sola, sino a las diversas meiotragias funcionales de las diversas vísceras que están presentes en los casos acompañados de graves alteraciones vasculares, en particular, al sufrimiento renal.»

F. Wuhrmann y Ch. Wunderly (75) dicen a propósito de la proteinemia en la hipertensión arterial: «El cuadro clínico conocido por el nombre de hipertonía esencial, en el cual incluimos aquellos casos en que, con presión variable o no, se hallan exentos de alteraciones ostensibles del funcionamiento renal, no origina, en general, alteración alguna del cuadro proteico».

Las modificaciones del cuadro proteico son decisivas, principalmente en las enfermedades hematógenas del riñón y poseen una gran importancia en el diagnóstico y pronóstico. Es preciso tener en cuenta la influencia eventual de un foco inflamatorio primario, amígdalas, granuloma dentario, etc., así como el hecho de que, independientemente del proceso fundamental, las diversas alteraciones de la función renal sobre los otros órganos, como el hígado, serosas, etc., motivan evidentes modificaciones secundarias sobre el cuadro proteico».

Labbé, M. Labbé, H. y Nepreux, F. (76) citan los resultados obtenidos por diversos autores en relación con la hipertensión arterial: «El equilibrio proteico de la sangre es normal según Rowe, Gettler, Oppenheim y Simeon; es variable para Puech; para Goväerts, hay hiperproteinemia».

Los resultados obtenidos en cuanto a las distintas fracciones proteicas no permiten señalar carácter alguno al que atribuir un significado determinado.

Franzini, D. y Mosna, S. (78) han realizado un estudio en 33 casos de hipertensión de diversa etiología (22 esenciales, 6 arteriosclerosis y 5 glomerulonefritis crónicas) y han constatado una disproteinemia de mediana gravedad, aumento de las proteínas totales, disminución relativa de las albúminas, aumento de las globulinas, en particular, de las fracciones alfa y

gamma, con inversión del cociente proteico.

Concluyen dichos autores que, desde el punto de vista práctico, se puede decir que la proteinemia proporciona valiosos datos sobre la evolución de la hipertensión arterial.

La proporción en que se hallan la albúmina y las globulinas es normal en un 50 % de los casos, pero en el 50 % restante, el cociente S/G se manifiesta invertido, sin que la anormalidad pueda ser atribuida a una fracción determinada.

Las globulinas beta no muestran caracteres uniformes y el promedio hallado es de 9,43 grs. %, por lo que en nuestros casos no se observa la hiperbetaglobulinemia señalada por Poli en algunos casos.

El valor promedio de la gamma globulinemia hallado (14,31 grs. por mil) se halla dentro de la normalidad, a pesar de que se observa una cierta tendencia a la hiper gammaglobulinemia. Las desviaciones observadas de la misma no permiten, sin embargo, ser consideradas como características de la hipertensión.

Comportamiento de la proteinemia bajo la acción de la reserpina-sulfato de 1-4 dihidracinofthalacina

La disminución de la tasa en proteínas tiene su explicación en el particular mecanismo de acción de los fármacos administrados, los

cuales tienen un punto de ataque central, según se desprende de los estudios experimentales llevados a cabo por diversos autores.

Efectivamente, Bein (55), Bein, Gross, Tripod y Meier (56) y F. Gross (57) afirman de la reserpina que manifiesta una variada actividad, cuyos efectos constituyen un conjunto, la mayor parte de cuyos elementos se deben a una acción central. Afirman dichos autores que son típicos de la reserpina un efecto sedante particular hipnótico que se distingue del de las demás sustancias conocidas por tener una actividad depresiva central, acción hipotensora, acompañada de bradicardia, inhibición respiratoria, estimulación del peristaltismo intestinal, miosis, relajación muscular y un efecto sobre el centro regulador de la temperatura.

Estos efectos son típicos del estímulo de la zona parasimpática o zona C de Kurotsu, de la pared del tercer ventrículo de la región hipotalámica, según han demostrado experimentalmente Atsumi Marimoto y el prof. Kurotsu y sus colaboradores.

Asimismo, el sulfato de 1-4 dihidracinofthalacina tiene también un efecto central según ponen en claro los experimentos de diversos autores (Tripod y Meier (58), Lühr, Franke y Thiele, Harris y Turner, Bein, Gross, Tripod y Meier (59), Heintz y Lose, Carere-Comes (61), Bertelli y Rovati (62), etcétera).

Uno de los mecanismos de regulación de la proteinemia se ejerce desde los centros nerviosos. Este hecho ha sido estudiado en varias ocasiones, empezando por el documentado trabajo de Atsumi Marimoto (54) quien realizó sus experiencias sobre conejos normales, a los que, estando en ayunas, estimulaba eléctricamente el núcleo hipotalámico.

El Prof. Kurotsu y sus colaboradores en sus trabajos experimentales e histológicos de los centros autónomos dividieron la pared del tercer ventrículo de la región hipotalámica en tres zonas: A de Grunthal, parasimpática; B de Grunthal, simpática y C de Grunthal, parasimpática. Siguiendo estos experimentos, Atsumi Marimoto demuestra que el estímulo de la zona C, parasimpática, da lugar a la aparición de enoftalmos y miosis, con relajación muscular, al mismo tiempo que se produce un descenso de las proteínas totales, con descenso de las globulinas. Las cifras normales, se recuperaban a los 120 minutos de la estimulación.

Doring, Schaeffers y Weber (7) practicaron determinaciones de la proteinemia cada tres horas, en el transcurso del día, por el método densimétrico. Las extracciones las realizaban siempre después de las dos horas de la ingestión de comida. Estas determinaciones fueron hechas a 7 personas varias veces, cada 20 días.

Los resultados que estos auto-

res han conseguido demuestran una caída del valor de la proteinemia desde 68 grs. ‰ a las 22 horas, a 58,5 grs. ‰ a las 10 horas de la mañana. El valor máximo lo alcanzaba la proteinemia a las 22 horas del día.

Estos mismos autores se propusieron comprobar si las variaciones observadas guardaban relación con el ritmo sueño-vigilia, llegando a demostrar claramente la existencia de una disminución de la proteinemia total durante las horas de sueño.

Los citados autores explican este fenómeno acudiendo a la posibilidad de una regulación central de la proteinemia a través del sistema neurovegetativo en relación con el tono simpático diurno (elevación de la proteinemia) y el parasimpático nocturno (disminución de la tasa).

La variación diaria fisiológica de la proteinemia es, por tanto, muy importante y de un interés indudable. Nos hace comprender al mismo tiempo el hasta cierto punto sorprendente resultado obtenido en nuestras experiencias, registrando un descenso promedio de 10,51 grs. por mil. En nuestro caso se trataba, efectivamente, de un estímulo claro de los centros nerviosos parasimpáticos. Este fenómeno cobra un mayor significado al venir corroborado por un comportamiento análogo de la proteinemia en un grupo de siete controles en los que

se comprobó un descenso promedio de 10 grs. por mil.

Por lo que respecta a la albúmina, se produce un descenso promedio de 7,60 grs. ‰ en el grupo de los hipertensos. En la fracción albúmina se observa un comportamiento consecuente, que permite sacar una conclusión evidente al seguir fiel al descenso de la proteinemia total observada. En los individuos controles se comprueba paralelamente, un descenso promedio de 11,81 grs. ‰.

El corto número de casos en que el descenso de la proteinemia total no se hace a sus expensas, presenta una disminución muy pequeña y que puede ser imputable a errores inevitables inherentes a las técnicas empleadas. Se puede decir, por tanto, que el descenso de las proteínas se hace siguiendo la ley fundamental de la fisiopatología de las proteínas enunciada por Gras y Wuhrmann y que dice: «Siempre que se produce una perturbación no compensada del metabolismo de las proteínas plasmáticas, se establece un desequilibrio entre sus fracciones en el sentido de un déficit de la fracción albúmina». (77).

Estos resultados pueden haber estado influidos por el hecho de que las extracciones ha sido hechas por la mañana en ayunas desde 10-12 horas antes, estando el enfermo encamado durante el ensayo, dando lugar a la intervención posible de diversos factores (descanso, acción de la hormona antidiurética de la

hipófisis, acción hemoconcentradora de la adrenalina, cuya tasa es mínima durante el reposo nocturno, etc.).

En las restantes fracciones parece existir una cierta tendencia al descenso, pero sin demostrar tanta uniformidad.

La globulina alfa 1 experimen-

ta una disminución promedia de 0,98 grs. por mil.

La globulina alfa 2 disminuye un promedio de 0,96 grs. por mil.

La betaglobulinemia disminuye un promedio de 1,98 por mil.

La gammaglobulinemia descien- de un promedio de 2,12 grs. por mil.

Cuadro nº 1

| Método | Año | Nº obs | Prem. | Límites | Medio |
|---|--------------|------------|--------------|------------------------|--------|
| Refractómetro | | | | | |
| Rowe | 1916 | 7 | 70,50 | 60,0-82,0 | Suero |
| Epstein | 1922 | - | 70,0 | 60,0-80,0 | " |
| Lloyd y Paul | 1928-29 | - | 78,3 | 72,3-84,3 | " |
| Yversen y Nakzawa | 1928 | 8 | 76,8 | 72,0-82,8 | " |
| Kylin | 1932-33 | 22 | 78,4 | 65,9-97,8 | " |
| Permanyer | 1946 | 50 | 75,0 | 69,8-80,6 | " |
| Gras | 1951 | 60 | 71,1 | 62,0-80,6 | " |
| KJELDAHL | | | | | |
| Linder, Lunds- gaard y Van Sly- ke | 1924 | 9 | 67,3 | 56,2-74,5 | Plasma |
| Salversen | 1926-27 | 42 | 70,1 | 63,4-79,6 | " |
| Jones | 1929 | 20 | 67,3 | 56,8-81,6 | " |
| Bruckman, D'Esopo y Peters | 1930 | 13 | 69,3 | 64,6-76,5 | Suero |
| Yrevorow, Ka- ser, Paterson y Hell | 1941-42 | 284 | 69,4 | 54,0-80,0 | Plasma |
| Gutman, Moore Gutman, Mac Cle- llan y Kabat | 1941 | 46 | 70,0 | 65,0-79,0 | Suero |
| Dyson | 1945 1945 | 353 100 | 65,6 67,8 | 55,6-76,5 59,5-78,6 | " " |
| Reiner, Fenickel y Stern | 1950 | 80 | 73,54 | - | " |
| Barbagallo | 1950 | 6 | 68,0 | 63,7-73,7 | " |
| PROMEDIO GLOBAL (Kjeldahl) | | | 68,98 | | |

HIPERTENSOS

Expresión de los resultados en gramos por mil

| | Prto. I | Tot. F | Albumina | | Alfa 1 | | Alfa 2 | | Beta | | Gamma | |
|--------------|------------|-----------|----------|-------|--------|------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | I | F | I | F | I | F | I | F | I | F |
| T.O.F. Nº | 45,4 | 52 | 18,72 | 19,37 | 0,97 | 3,82 | 4,54 | 8,78 | 5,17 | 10,29 | 15,89 | 9,56 |
| P.S. Nº | 73,5 | 52,5 | 36,93 | 25,46 | 5,07 | 2,41 | 11,13 | 6,8 | 9,33 | 5,61 | 12,05 | 11,8 |
| B.B.P. Nº | 69,7 | 57,4 | 38,50 | 25,68 | 2,47 | 2,43 | 5,58 | 8,17 | 7,38 | 7,98 | 15,57 | 12,74 |
| F.P.O. Nº | 80 | 62,3 | 40,2 | 25,04 | 5,72 | 4,29 | 10,16 | 10,3 | 9,80 | 9,80 | 14,08 | 13,83 |
| A.B. Nº | 93 | 63 | 34,59 | 26,39 | 7,44 | 5,22 | 11,53 | 7,81 | 16,64 | 10,3 | 22,87 | 12,19 |
| M.H.S. Nº | 49,7 | 37,8 | 32,92 | 13,89 | 0,37 | 1,66 | 1,54 | 4,68 | 3,65 | 4,38 | 10,93 | 13,13 |
| D.S.V. Nº | 43,4 | 48,3 | 26,14 | 26,08 | 1,34 | 1,30 | 3,36 | 4,20 | 4,38 | 7,19 | 7,89 | 9,41 |
| H.G.C. Nº | 50,4 | 47,6 | 17,64 | 18,20 | 4,03 | 2,18 | 5,19 | 12,49 | 11,18 | 2,18 | 15,22 | 12,73 |
| P.R. Nº | 72 | 51,1 | 28,94 | 16,35 | 8,42 | 3,78 | 9,36 | 12,51 | 12,16 | 9,86 | 13,03 | 8,73 |
| M.O.R. Nº | 70 | 63 | 29,22 | 31,81 | 3,43 | 2,99 | 10,22 | 6,42 | 9,80 | 8 | 17,15 | 13,51 |
| I.A.R. Nº | 63,7 | 73,5 | 31,59 | 34,72 | 3,74 | 1,19 | 8,45 | 5,19 | 9,18 | 7,1 | 17,64 | 18,47 |
| L.E. Nº | 62,5 | 47,5 | 25,62 | 20,42 | 4,17 | 2,51 | 11,23 | 6,97 | 9,43 | 5,71 | 12,15 | 12,01 |
| P.B.G. Nº | 67,2 | 56,7 | 40,99 | 36,79 | 1,94 | 2,49 | 6,82 | 6,86 | 8,16 | 5,49 | 8,6 | 10,31 |
| A.M. Nº | 70,7 | 53,9 | 31,6 | 18,58 | 4,59 | 2,47 | 13,5 | 4,63 | 10,6 | 13,69 | 10,25 | 14,49 |
| J.G.F. Nº | 90,3 | 52,5 | 40,8 | 18,90 | 7,08 | 2,88 | 10,92 | 3,83 | 12,37 | 10,76 | 18,15 | 10,08 |
| J.O. Nº | 72,8 | 53,2 | 34,03 | 32,18 | 4,36 | 2,34 | 9,9 | 4,36 | 8,72 | 6,54 | 15,65 | 7,82 |
| I.C. Nº | 55,3 | 58,8 | 24,88 | 20,34 | 4,70 | 6,58 | 5,64 | 10,93 | 7,18 | 8,05 | 8,57 | 11,93 |
| B.V. Nº | 67 | 54,5 | 26,86 | 21,97 | 7,44 | 5,48 | 10,53 | 6,81 | 15,64 | 9,33 | 20,87 | 10,91 |
| L.G.A. Nº | 78,5 | 75,7 | 40,65 | 39,55 | 3,55 | 2,53 | 6,63 | 7,22 | 9,42 | 7,94 | 17,15 | 18,16 |
| | 63,7 | 58,8 | 33,52 | 31,25 | 1,85 | 3,60 | 6,48 | 4,50 | 9,34 | 7,18 | 12,51 | 12,25 |

C O N T R O L E S
Expresión de los resultados en gramos por mil

| | Prot. Tot. | | Albúmina | | Alfa 1 | | Alfa 2 | | Beta | | Gamma | |
|--------|------------|-------|----------|-------|--------|------|--------|-------|------|-------|-------|-------|
| | I | F | I | F | I | F | I | F | I | F | I | F |
| J.G. | 64,77 | 53,35 | 45,3 | 27,73 | 3,62 | 2,32 | 3,4 | 9,06 | 3,88 | 4,9 | 10,36 | 9,33 |
| J.A. | 62,23 | 60,9 | 44,8 | 28,65 | 1,71 | 2,19 | 1,99 | 11,69 | 3,94 | 6,7 | 7,4 | 8,71 |
| M.L.B. | 58,1 | 47,6 | 25,27 | 21,18 | 5,05 | 1,14 | 9,47 | 6,9 | 7,78 | 6,19 | 10,8 | 12,38 |
| A.A.A. | 63 | 51,3 | 31,18 | 26,82 | 2,52 | 2,82 | 3,96 | 4,03 | 7,11 | 5,28 | 17,95 | 12,77 |
| A.L.C. | 70,07 | 51,8 | 34,64 | 28,59 | 3,39 | 2,07 | 7,28 | 4,66 | 7,7 | 4,97 | 17,53 | 11,18 |
| M.M.B. | 60,9 | 50,4 | 31,74 | 23,33 | 2,19 | 3,07 | 6,02 | 5,25 | 7,67 | 7,76 | 12,78 | 10,88 |
| V.C.A. | 55,3 | 49 | 26,82 | 21,8 | 2,48 | 1,19 | 3,26 | 4,26 | 16,5 | 16,41 | 6,02 | 4,45 |

HIPERTENSOS

Cuadro resumen de los promedios, límites y desviaciones

| | A N T E S | | | D E S P U E S | | |
|----------------|-----------|------------|--------|---------------|-------------|--------|
| | Promed. | Límites | Sigmas | Promed. | Límites | Sigmas |
| Proteínas tot. | 66,65 | 43-93 | 12,9 | 56,14 | 37,8-75,7 | 8,4 |
| Albúminas | 32,72 | 18,2-40,99 | 6,8 | 25,12 | 13,89-39,55 | 7 |
| Alfa 1 | 4,08 | 0,37-8,42 | 2,2 | 3,10 | 1,19-6,58 | 1,3 |
| Alfa 2 | 8,13 | 1,54-13,5 | 3,1 | 7,17 | 4,2-12,51 | 2,6 |
| Beta | 9,43 | 3,65-16,64 | 3,1 | 7,45 | 1,8-13,69 | 2,3 |
| Gamma | 14,31 | 7,89-22,87 | 3,8 | 12,19 | 7,82-18,47 | 2,68 |

CONTROLES

Cuadro resumen de los promedios, límites y desv. standard

| | A N T E S | | | D E S P U E S | | |
|----------------|-----------|------------|--------|---------------|-------------|--------|
| | Promed. | Límites | Sigmas | Promed. | Límites | Sigmas |
| Proteínas tot. | 62,05 | 55,3-70,07 | 4,2 | 52,05 | 47,6-60,96 | 4,1 |
| Albúminas | 34,25 | 25,27-45,3 | 7,5 | 25,44 | 21,18-28,65 | 3 |
| Alfa 1 | 2,99 | 1,71-5,05 | 1 | 2,25 | 1,91-3,07 | 0,6 |
| Alfa 2 | 5,05 | 1,99-9,47 | 2,4 | 6,88 | 4,03-14,69 | 3,5 |
| Beta | 7,8 | 3,88-16,53 | 3,9 | 7,42 | 4,9-16,41 | 3,7 |
| Gamma | 11,83 | 6,02-17,95 | 3,7 | 9,95 | 4,45-12,77 | 2,6 |

Conclusiones

1. Ha sido efectuado un estudio en 20 hipertensos, de cuyo proteinograma han sido obtenidos los siguientes valores promedio:

Proteínas totales: 66,65 grs. por mil (σ 12,9).

Albúminas: 32,72 grs. por mil (σ 6,8).

Alfa 1: 4,08 grs. por mil (σ 2,2).

Alfa 2: 8,13 grs. por mil (σ 3,1).

Beta: 9,43 grs. por mil (σ 3,1).

Gamma: 14,31 grs. por mil (σ 3,8).

2. Se observa la existencia de una discreta hipoalbuminemia y una tendencia a la hipergammaglobulinemia, pero sin desviaciones que puedan ser consideradas características de la hipertensión.

3. Pese a la existencia posible de relaciones de la globulina beta con los procesos de tipo arteriosclerótico, es interesante destacar la no existencia de un aumento significativo en la misma.

4. En los casos de hipertensión nefrógica se ha comprobado la existencia de valores bajos de la proteinemia.

5. En este mismo grupo de 20 hipertensos y en un grupo de 7 controles normales se ha estudiado la acción de la asociación medicamentosa reserpina-sulfato de 1,4 dihidracinoftalacina, comprobándose una neta acción de la misma sobre el proteinograma.

6. Los valores promedios del proteinograma en los individuos hi-

pertensos después de sometidos a la medicación han sido:

Proteínas totales: 56,14 grs. por mil (σ 8,4).

Albúminas: 25,12 grs. por mil (σ 7).

Alfa 1: 3,10 grs. por mil (σ 1,3).

Alfa 2: 7,17 grs. por mil (σ 2,6).

Beta: 7,45 grs. por mil (σ 2,3).

Gamma: 12,19 grs. por mil (σ 2,68).

Y en los individuos controles sometidos al mismo tratamiento han sido :

Proteínas totales: 52,05 grs. por mil (σ 4,1).

Albúminas: 22,44 grs. por mil (σ 3).

Alfa 1: 2,25 grs. por mil (σ 0,6).

Alfa 2: 6,88 grs. por mil (σ 3,5).

Beta: 7,42 grs. por mil (σ 3,7).

Gamma: 9,45 grs. por mil (σ 2,6).

6. Por tanto, se ha comprobado que la proteinemia total presenta un descenso promedio de 10,51 gramos por mil en los individuos hipertensos. En el grupo control se observa un descenso promedio de 10 grs. por mil (proteinemia inicial: 62,05 grs. por mil).

7. En la fracción albúmina se ha comprobado un descenso promedio de 7,60 grs. por mil en los hipertensos tratados y, en el grupo control, un descenso de 11,81 gramos por mil.

8. En las fracciones globulínicas parece existir una discreta tendencia al descenso, aunque no creemos pueda ser valorable.

9. Este descenso tan evidente de la proteinemia total, y de la albuminemia en particular, debe atribuirse a la acción intrínseca de la asociación reserpina-sulfato de 1,4 dihidracinofthalacina, porque se presenta tanto en el grupo de los controles y tiene un valor real por

las razones expuestas en la discusión.

10. La interpretación de este hecho no creemos que pueda hacerse con seguridad de momento, pero podría buscarse a través de la acción del tono vagal intensificado por medio de los fármacos administrados.

BIBLIOGRAFIA

1. GRAS, J.: *Proteínas Plasmáticas*, pág. 153. Ed. Jims, Barcelona 1956.
2. GRAS, J.: *Proteínas plasmáticas*, pág. 157-159. Ed. Jims, Barcelona 1956.
3. OLBRICHT, O.: *Edimb. Med. J.* 55, 100, 1948.
4. RAFSKY, NEWMAN y KRIEGER: *Amer. J. Med. Sci.*, 7, 42, 1942.
5. MANZONI, RAVIZZA y SCARZELLA: *Riv. Geront., Geriatr.* 2, 201, 1952.
6. GRAS, J.: *Congr. Nac. Geriat. Barcelona*, 1950.
7. DORING, SCHAEFFERS y WEBER: *Pflügers, Arch.* 253, 165, 1951.
8. LANGE: *Acta. Med. Scan.*, 176, 1946.
9. HYNES, ISHAG y MORRIS: *Lancet*, 251, 590, 1946.
10. GUTMAN: *Avances in protein chemistry*, T. Y. Acad. Press. Inc. New York, 1958.
11. POLI: *Emoplasmopatie*. Capelli ed. Bologna, 1947.
12. LÖFFLER, W., WUHRMANN, F. y WUNDERLY, Ch.: *Les hiperproteinemies. Methode d'investigation et signification clinique*. Congr. Frac. Med. Genève, 1949.
13. GRAS, J.: *Rev. Esp. Fisiol.*, 6, 275, 1950.
14. GRAS, J.: *Prote. Plasm.*, pág. 62. Ed. Jims, Barcelona, 1956.
15. WUHRMANN, F. y WUNDERLY, Ch.: *Las proteínas sanguíneas en el hombre*, pág. 28. Ed. Científico-Médica. Barcelona, 1949.
16. GRAS, J.: *Prot. Plasm.* pág. 61. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
17. GRAS, J.: *Prog. Plasm.*, pág. 62. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
18. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 63. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
19. WUHRMANN, F. y WUNDERLY, Ch.: *Las prot. sang. en el ho.*, pág. 29. Ed. Cient. Méd. Barcelona, 1949.
20. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 63. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
21. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 66. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
22. WUHRMANN, F. y WUNDERLY, Ch.: *Las prot. sang. en el hombre*, pág. 40. Ed. Cient. Méd. Barcelona, 1949.
23. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 67. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
24. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 67. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
25. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 69. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
26. WIEDEMANN: *Las prot. sang. en el hombre (WUHRMANN y WUNDERLY)*, pág. 73. Ed. Cient. Méd. Barcelona, 1949.
27. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 30. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
28. WIEDEMANN: *Las prot. sang. en el hombre (WUHRMANN y WUNDERLY)*, pág. 74. Ed. Cient. Méd. Barcelona, 1949.
29. WUHRMANN, F. y WUNDERLY, Ch.: *Las prot. sang. en el hombre*, pág. 74. Ed. Cient. Méd. Barcelona, 1949.
30. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 30. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
31. WIEDEMANN: *Las prot. sang. en el hombre (WUHRMANN y WUNDERLY)*, pág. 75. Ed. Cient. Méd. Barcelona, 1959.
32. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 31. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
33. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 32. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
34. WUHRMANN, F. y WUNDERLY, Ch.: *Las prot. sang. en el hombre*. Ed. Cient. Méd. Barcelona, 1949.
35. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 31. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
36. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 31. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
37. LOEB: *Proteins and the theory of colloids behaviour* Mc. Grave Ed. London, 1922.
38. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 32. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
39. GRAS, J.: *Prot. Plasm.*, pág. 33. Ed. Jims. Barcelona, 1956.

41. LONGSWORTH: Chem., Rev. 30, 323, 1942.
42. EJEDEMANN, ScWWEIZ: Med. Woch., 26, 241, 1946.
43. WIEDEMANN: Las prot. sang., pág. 105, Ed. Cient. Méd. Barcelona 1959.
44. WIEDEMANN: Las prot. sang., pág. 103, Ed. Cient. Méd. Barcelona, 1949.
45. GRAS, J.: Prot. Plasm., pág. 177, Ed. Jims. Barcelona, 1956.
46. BÖGER, A. y SCHROEDER, H.: Klin Woch. 23, 842, 1934.
47. BOCK, J.: Nord. Med. 33, 715, 1947, y 38, 792, 1948.
48. LABO, G.: Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 24, 1030, 1948.
49. GRAS, J.: Prot. Plasm., pág. 178, Ed. Jims. Barcelona, 1956.
50. DOUGHERTY, CHASE y WHITE, J.: Immunol. 52, pág. 101, 1946.
51. GRAS, J.: Prot. Plasm., pág. 178, Ed. Jims. Barcelona, 1956.
52. GRAS, J.: Prot. Plasm., pág. 183, Ed. Jims. Barcelona, 1956.
53. GRAS, J.: Prot. Plasm., pág. 184, Ed. Jims. Barcelona, 1956.
54. ATSUMI MARIMOTO: Experimental studies on the relation of autonomic centers to serumproteins. Med. J. of Osaka University. Vol. 2, n.º 1. Sep. 1, 1950.
55. BEIN, H. J.: Pharmacological Reviews, vol. 8, n.º 3, Sep. 1956.
56. BEIN GROSS, TRIPOD y MEIER, J.: Suisse Med. 83, 1007, 1953.
57. GROSS, F.: Boll. Soc. Med. Chir., Pisa (It.), 23, 1, 5-19, Jan.-Feb. 1955.
58. TRIPOD y MEIER: Helv. Physiol. Acta, 12, C33-C34, 1954.
59. BEIN y cols.: Schweiz. Med. Woch. 83, 14, 1953.
60. LÜHR, K.: Zeitsch. für Kreislauff., 45, pag. 321-334, 1956.
61. CARERE-COMES, O.: Min. Med. (It.), 45, 98, 1533-1540, 8 Dez. 1956.
62. BERTELLI, A. y ROVATI, V.: Atti Soc. Lomb. Sc. Med. Biol., vol. 8, fasc. 1 1953.
63. MÜLLER, SCHLITTLER y BEIN: Experientia (Suiza), 8, 338, 1952.
64. SCHLITTLER, DORMAN, L. y FURLENMEIER, A., etc.: Helv. Chim. Acta, 37, 59, 1954.
65. MARTORELL, A.: Angiologia. vol. 9, n.º 3, pág. 144, Mayo-Junio 1957.
66. DRUEY, J. y RINGIER, B. H.: Helv. Chim. Acta, 34, 195, 1951.
67. La Hipertensión Arterial Cibal. Barcelona.
68. BARKHOFF, T.: Deuch. Med. J. 23-24, pág. 722-726, Dic. 1955.
69. SCHMITT, H. y GICQUEL, J.: Comp. rend. Acad. Sc. (Fr.), 240, 20, 2028-2029, Mai 1955.
70. BÖHNER, E. y THEOBALD, H.: Deutch., Med. Woch., 24, 929-930, 1955.
71. STETTbacher, A.: Praixs, 7, 138, 139, 1955.
72. ALLEN, A. C.: Enfermedades del riñón, pág. 143, Ed. Inter-americana, 1952.
73. DÍAZ RUBIO, M. y SEGOVIA, F.: Rev. Clin. Esp. 2, 78-79, enero 1956.
75. POLI, E.: Fisiopatología y clínica del protidoplasma, parte tercera, paragrafo 10, pág. 942, Soc. ed. Delfino, Milano, 1951.
75. WUHRMANN, F. y WUNDERLY, Ch.: Las prot. sang. en el hombre, pág. 246, Ed. Cient. Méd., Barcelona 1949.
76. LABBÉ, M., LABBÉ, H. y NEPREUX, F.: Tech. lab. app. aux malad. de l'appareil dig. et de la nutr., pág. 815, Masson Cie, Paris, 1932.
77. GRAS, J.: Prot. Plasm., pág. 240, Ed. Jims. Barcelona, 1956.
78. FRANZINI, D. y MOSNA, S.: Prot. med. (It.), 13, 193, 1957.
«Il quadro sieroproteico nell'ipertensione». Ist. di patol. Spec. Med. e metodol. Clin. dell'Univ., Milano, Italie.